



TITLE:

Studies on the Biosynthesis of Serotonin in Mammalian Brain A NEW ASSAY METHOD OF TRYPTOPHAN 5-HYDROXYLASE AND 5-HYDROXYTRYPTOPHAN DECARBOXYLASE(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Ichiyama, Arata

CITATION:

Ichiyama, Arata. Studies on the Biosynthesis of Serotonin in Mammalian Brain A NEW ASSAY METHOD OF TRYPTOPHAN 5-HYDROXYLASE AND 5-HYDROXYTRYPTOPHAN DECARBOXYLASE. 京都大学, 1968, 医学博士

ISSUE DATE:

1968-05-23

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/212861>

RIGHT:

氏 名

新 山 市
あらた やま いち

学位の種類

医学博士

学位記番号

論医博第441号

学位授与の日付

昭和43年5月23日

学位授与の要件

学位規則第5条第2項該当

学位論文題目

Studies on the Biosynthesis of Serotonin in Mammalian Brain
A NEW ASSAY METHOD OF TRYPTOPHAN
5-HYDROXYLASE AND 5-HYDROXYTRYPTOPHAN
DECARBOXYLASE

(哺乳動物脳におけるセロトニン生合成に関する研究, トリプトファン
5水酸化酵素と5オキシトリプトファン脱炭酸酵素の新しい活性測定
方法)

論文調査委員

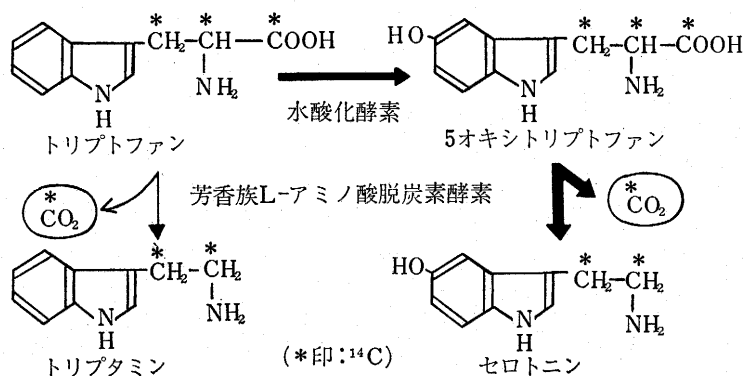
(主 査)

教授 早 石 修 教授 島本暉朗 教授 沼 正 作

論 文 内 容 の 要 旨

セロトニンはトリプトファンの5の位置の水酸化反応と、生成した5オキシトリプトファンの脱炭酸反応により生合成される。この中第2段階の脱炭酸反応は Udenfriend らによってカテコールアミンの生合成にも関与する基質特異性の広い酵素、すなわち芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素により触媒されると報告された。したがって第1段階のトリプトファン水酸化酵素がセロトニン合成の律速酵素として、またおそらく各種代謝調節機構の支配を受ける段階として注目されたが、従来この酵素のよい活性測定方法がなかったために研究が困難であった。

本論文ではセロトニン生合成およびその調節機構研究の第1報として、トリプトファン水酸化酵素の正確かつ簡便な活性測定方法を確立するために、側鎖の3つの炭素を ^{14}C で標識したトリプトファン、すなわちトリプトファン-1,2,3- ^{14}C からの放射性炭酸ガスの生成を利用する方法を検討した。この方法の原理は芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素は5オキシトリプトファンからセロトニンへの反応を触媒するほか、トリプトファンをも基質としてトリプタミンを生成するが、トリプトファンに対する活性は弱く km も高



いので、ある適切な条件下にトリプトファンから発生する炭酸ガスの量はその際生成したセロトニンの量に等しいという事実に基づく（図参照）。

トリプトファン-1,2,3- ^{14}C は大腸菌の T_3 変異株より精製したトリプトファン合成酵素を用いて、インドールとセリン- ^{14}C (u) から酵素的に合成し、濾紙クロマト、活性炭処理および Sephadex G-25 を支持体とする分配クロマトにより精製した。

まずモルモットやその他の動物の脳より得た各種酵素標品を用いて、トリプトファン-1,2,3- ^{14}C より放射性炭酸ガスが生成する条件を検討した結果、活性は脳幹部に最も強く、また細胞分画により上清部分と神経末端顆粒と思われる顆粒分画の両方に存在することが明らかとなった。反応には酸素の存在が不可欠であり、また上清、顆粒の両酵素共助酵素として還元型プテリジンと TPNH または SH 化合物を必要とする。反応の至適 pH は8、トリプトファンに対する k_m は顆粒酵素は $4 \times 10^{-5}\text{M}$ 、上清酵素は $1.4 \times 10^{-4}\text{M}$ であった。

この際反応生成物がセロトニンであることを同定するために、モノアミン酸化酵素阻害剤の存在下に反応を行ない、生成した放射性炭酸ガスの量を測定した後反応生成物を Dowex 1 と Amberlite CG-50 によるカラムクロマトと分配クロマトにより単離、測定した。その結果 10^{-5}M 以下のトリプトファンを基質とする限りにおいては炭酸ガスとはほぼ等量のセロトニンの生成が認められ、トリプタミン、5オキシトリプトファンやその他の物質の蓄積はほとんど検出し得ぬこと、すなわちこの方法がトリプトファン水酸化酵素の確実、鋭敏かつ簡便な活性測定方法として利用しうることが明らかとなった。高濃度のトリプトファン- ^{14}C を基質とした場合にはわずかではあるがトリプタミンも生成するために測定結果は近似的となる。

一方、以上と全く同様にして5オキシインドールとセリン- ^{14}C (u) から5オキシトリプトファン-1,2,3- ^{14}C を酵素的に合成することにも成功し、したがって第2段階の脱炭酸酵素の放射性炭酸ガスの生成による活性測定方法も同時に確立し得た。

現在この2つの方法を用いて脳幹部におけるセロトニン合成機構およびその調節機構を研究中であるが、本論文では上清および顆粒分画のトリプトファン水酸化酵素ならびに脱炭酸酵素の基本的な性質をあわせて報告した。

論文審査の結果の要旨

セロトニンはトリプトファンの5の位置の水酸化反応と、生成した5-オキシトリプトファンの脱炭酸反応によって作られることが推測されていたが、最初の反応を触媒する酵素はじゅうらい未発見であった。著者はトリプトファンのカルボキシル基を ^{14}C で標識したものを基質としてトリプトファン水酸化酵素の正確かつ簡便な活性測定法を開発し、これを使用して動物の脳幹部にトリプトファン水酸化酵素が存在することを明らかにした。さらに細胞分画により活性が神経末端顆粒と上清部分に存在すること、還元型プテリジンと TPNH または SH 化合物が助酵素であることを証明した。また以上と同様の原理を用いて新しい脱炭酸酵素の活性測定法を確立し、脳におけるセロトニンの合成機構および調節機構に重要な貢献をした。

本論文は学術上有益であり、医学博士の学位論文として価値あるものと認定する。